

**IDENTIFIKASI FITOKIMIA, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DENGAN METODE *1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH), DAN
TOKSISITAS DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test*
(BSLT) DARI EKSTRAK ETANOL TANGKAI BUAH
PINANG YAKI (*Areca vestiaria* Giseke)**

Glorya Weroy Karundeng¹⁾, Herny E. Simbala¹⁾, Imam Jayanto¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado

ABSTRACT

Pinang Yaki (Areca vestiaria Giseke) which is a kind of wild palm, is a multi-functional plant. The people of North Sulawesi empirically use this plant to cure various diseases. In a previous study that said leaves, seeds and even the seed skin of areca nut have very high antioxidant content. Because of the large amount of antioxidants contained in Pinang Yaki plants, the study wanted to examine the compound content of the stalks of this plant. This study aims to determine the phytochemical content, ability of antioxidant activity, and plant toxicity, so that later it can be used as medicine. The results of this study indicate that the ethanol extract of areca fruit stalk has flavonoids, saponins, triterpenoids which have the potential as antioxidants and have a strong Inhibition Concentration 50 (IC50) value, ie, 16.52 µg / mL based on the 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method (DPPH), and the level of toxicity, namely the value of Lethality Concentration 50 (LC50) of 602 µg / mL which was carried out by the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method.

Keywords: *Areca vestiaria Giseke, Antioxidants, Toxicity, DPPH, BSLT*

ABSTRAK

Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke) yang merupakan sejenis palem liar, merupakan tanaman yang multi fungsi. Masyarakat Sulawesi Utara secara empiris menggunakan tanaman ini untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Pada penelitian yang sebelumnya mengatakan bahwa daun, biji bahkan kulit biji dari Pinang Yaki mempunyai kandungan antioksidan yang sangat tinggi. Oleh karena banyaknya kandungan antioksidan yang terkandung dalam tanaman Pinang Yaki maka peneliti ingin meneliti kandungan senyawa dari tangkai buah tanaman ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fitokimia, kemampuan aktivitas antioksidan, dan toksisitas tanaman, agar nantinya bisa digunakan sebagai obat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol tangkai buah Pinang Yaki memiliki kandungan flavonoid, saponin, triterpenoid yang berpotensi sebagai antioksidan dan memiliki nilai Inhibisi Concentration 50 (IC50) yang sangat kuat yakni, 16.52 µg/mL berdasarkan pengujian dengan metode *1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH), dan kadar toksisitas yakni nilai Lethality Concentration 50 (LC50) sebesar 602 µg/mL yang dilakukan dengan metode pengujian Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

Kata kunci: Pinang Yaki, Antioksidan, Toksisitas, DPPH, BSLT

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menginaktivasi radikal bebas serta menghambat pembentukan radikal bebas baru dengan cara mendonorkan elektron dan mengikat radikal bebas. Antioksidan berperan penting dalam pencegahan penyakit kanker dan penyakit degeneratif. Secara alami antioksidan dapat diperoleh dari daun sayuran dan biji – bijian, seperti asam askorbat, vitamin E, dan senyawa fenolik. Zat antioksidan yang berasal dari tumbuhan banyak diteliti dan dikembangkan. Secara alami, tumbuhan yang mengandung antioksidan tersebar pada berbagai bagian tumbuhan seperti akar, batang, kulit, ranting, daun, buah, bunga dan biji (Hutapea, 2005).

Pinang Yaki (*Areca vestiara* Giseke) yang merupakan sejenis palem liar, merupakan tanaman yang multi fungsi. Masyarakat Sulawesi Utara secara empiris menggunakan tanaman ini untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti diabetes dan diare. Selain itu juga dipakai sebagai obat kontrasepsi dan anti tumor/anti kanker. Berdasarkan penelitian sebelumnya mengenai tanaman Pinang Yaki, buah, biji, bahkan kulit biji dari tanaman ini diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, triterpenoid, tanin, dan saponin (Simbala, 2006). Oleh karena banyaknya kandungan senyawa yang terkandung dalam tanaman Pinang Yaki seperti pada buah, biji, bahkan kulit biji dari tanaman ini maka kali ini peneliti ingin meneliti kandungan senyawa tangkai buah dari tanaman Pinang Yaki. Dalam penelitian ini dilakukan identifikasi fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tangkai buah Pinang Yaki serta uji aktivitas antioksidan dengan

metode *1,1 – diphenyl – 2 - picrylhydrazyl* (DPPH) untuk mengetahui kemampuan ekstrak dalam menghambat radikal bebas dan Uji toksisitas (Simbala, 2006).

Untuk mengidentifikasi senyawa antioksidan dapat menggunakan senyawa *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Senyawa radikal kromogen seperti DPPH dapat secara langsung bereaksi dengan antioksidan. DPPH digunakan untuk mengevaluasi kemampuan antioksidan dari komponen dengan mengukur perubahan absorbansi, absorbansi DPPH akan menurun apabila elektron ganjil dari atom hidrogen dalam DPPH direduksi dengan penerimaan sebuah atom hidrogen dari antioksidan. Pengukuran aktivitas antioksidan dapat diketahui berdasarkan nilai Inhibisi Concentration (IC) 50, dimana menunjukkan kemampuan senyawa menghambat proses oksidasi sebesar 50% (Molyneux, 2004).

Uji toksisitas merupakan uji pendahuluan yang dilakukan untuk mengetahui efek toksik dan ambang batas penggunaan suatu tumbuhan sebagai obat. Uji toksisitas dapat dilakukan dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) terhadap larva *Artemia salina* Leach. BSLT merupakan metode untuk mengetahui tingkat toksisitas suatu senyawa aktif terhadap larva udang *Artemia salina*. Senyawa aktif yang memiliki daya toksisitas tinggi diketahui berdasarkan nilai Lethal Concentration 50% (LC₅₀). Nilai LC₅₀ yaitu suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang menyebabkan kematian hewan uji sebesar 50%. Hasil uji toksisitas dapat dijadikan tolak ukur penggunaan konsentrasi senyawa aktif yang aman untuk digunakan sebagai obat.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian yakni blender, ayakan, kertas saring whatman 42, tabung reaksi, rak tabung, cawan petri, labu takar, mikropipet, pipet tetes, baker glass, timbangan analitik, gelas ukur, erlenmeyer, incubator, batang pengaduk, aluminium foil, orbital shaker, spektrofotometer uv-vis, spatula, corong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tangkai buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*). Bahan kimia yang digunakan Etanol 96%, metanol pro analisis, vitamin C p.a, Air laut, Naupilus Artemia salina, Aquadest, DPPH, HCl pekat, NaOH, FeCl₃, Serbuk Magnesium.

PENGAMBILAN DAN PERSIAPAN SAMPEL

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu tangkai buah dari Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) yang diambil di Desa Tanggari Kec. Airmadidi, Sulawesi Utara. Sampel kemudian dicuci untuk menghilangkan sisa kotoran yang dapat mengganggu dan dikeringkan sampai kering. Selanjutnya sampel ditimbang berat basah kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga sampel menjadi halus lalu diayak dengan ayakan.

IDENTIFIKASI TANAMAN

Identifikasi tanaman dilakukan di Bagian Taksonomi Tumbuhan Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado.

EKSTRAKSI SAMPEL

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu tangkai buah dari Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) yang

diambil di Desa Tanggari Kec. Airmadidi, Sulawesi Utara. Sampel kemudian dicuci untuk menghilangkan sisa kotoran yang dapat mengganggu dan dikeringkan sampai kering. Selanjutnya sampel ditimbang berat basah kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga sampel menjadi halus lalu diayak dengan ayakan.

UJI FITOKIMIA

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak tangkai buah Pinang Yaki. Identifikasi yang dilakukan adalah identifikasi flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin.

IDENTIFIKASI FLAVONOID

Sebanyak 0.5 gram ekstrak ditambahkan 2 mL etanol 96%, kemudian dipanaskan dalam penangas air sampai mendidih. Dipipet lapisan yang atas kemudian ditambahkan 2-3 tetes HCL pekat dan 0.1 gram serbuk Mg. Selanjutnya diamkan selama 3 menit, bila terjadi perubahan warna menjadi merah atau kekuning-kuningan berarti menunjukkan adanya flavonoid.

IDENTIFIKASI SAPONIN

Sebanyak 0.5 gram ekstrak ditambahkan 5 mL aquades sambil dikocok kuat selama 1 menit. Pada tabung sampel terdapat buih setinggi 3.5 cm dan bila busa yang terbentuk tetap stabil ± 7 menit, berarti menunjukkan adanya saponin.

IDENTIFIKASI TRITERPENOID

Sebanyak 0.5 gram ekstrak ditambahkan CH₃COOH glacial sebanyak

10 tetes dan H₂SO₄ pekat sebanyak 2 tetes. Larutan kemudian dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu.

IDENTIFIKASI TANIN

Sebanyak 0.5 gram ekstrak ditambahkan etanol 96%. Kemudian didiamkan ± 15 menit, lalu disaring. Filtrat yang didapat dipipet dan ditambahkan 2 tetes NaCl 10% dan 3 tetes FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna biru/hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin (Sangi *et al.*, 2008).

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak tangkai buah Pinang Yaki ini menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) seperti yang dilakukan oleh Molyneux (2004). Konsentrasi ekstrak Pinang Yaki yang digunakan adalah 10 µg/ml, 8 µg/ml, 6 µg/ml, 4 µg/ml, dan 2 µg/ml. Untuk pembuatan larutan stok diambil 10 mg ekstrak dan dimasukkan ke dalam 10 mL pelarutnya, hingga diperoleh konsentrasi larutan stok 1000 µg/ml.

- Untuk konsentrasi 10 µg/ml dibuat dengan cara diambil 0,1 mL larutan stok dan dimasukkan ke dalam 9,9 mL pelarutnya.
- Untuk konsentrasi 8 µg/ml dibuat dengan cara diambil 0,08 mL larutan stok dan dimasukkan ke dalam 9,92 mL pelarutnya.
- Untuk konsentrasi 6 µg/ml dibuat dengan cara diambil 0,06 mL larutan stok dan dimasukkan ke dalam 9,94 mL pelarutnya.

d. Untuk konsentrasi 4 µg/ml dibuat dengan cara diambil 0,04 mL larutan stok dan dimasukkan ke dalam 9,96 mL pelarutnya.

e. Untuk konsentrasi 2 µg/ml dibuat dengan cara diambil 0,02 mL larutan stok dan dimasukkan ke dalam 9,98 mL pelarutnya.

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara ditimbang 7,88 mg DPPH (BM 394,32 g/mol) dilarutkan dengan metanol p.a hingga 50,0 mL dalam labu takar 50 mL. Kedalam tiap tabung reaksi ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dalam metanol. Masing-masing konsentrasi sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, volume dicukupkan sampai 5 mL, kemudian diinkubasi pada suhu 27°C selama 30 menit. Hal ini dilakukan untuk mengoptimalkan aktivitas DPPH agar terjadi reaksi antara DPPH dengan sampel yang diuji. Selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Vitamin C p.a digunakan sebagai pembanding dengan konsentrasi 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, 10 µg/mL.

ANALISIS DATA (PENENTUAN NILAI IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*))

Kemampuan untuk meredam radikal bebas DPPH, Parameter yang bisa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH. Untuk menghitung nilai IC₅₀ diperlukan data persen inhibisi dari pengujian yang dilakukan. Persen inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

UJI TOKSISITAS DENGAN METODE BSLT

Pengujian toksisitas ekstrak tangkai buah Pinang Yaki menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang mengacu pada Krishnaraju *et al.* (2005) dengan cara mengujikan senyawa yang diduga toksik terhadap larva *A. salina*.

PERSIAPAN LARVA *Artemia salina* L.

Penetasan telur *Artemia salina* dilakukan dengan cara merendam sebanyak 50 mg telur *Artemia salina* dalam wadah yang berisi air laut dibawah cahaya lampu 25 watt. Telur *Artemia salina* akan menetas dan menjadi larva setelah 24 jam. Larva *Artemia salina* yang baik digunakan untuk uji BSLT yaitu yang berumur 48 jam sebab jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *Artemia salina* bukan disebabkan toksisitas melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan (Pamolango, 2016).

PEMBUATAN KONSENTRASI SAMPEL UJI

Pembuatan konsentrasi larutan uji untuk BSLT adalah 1000 µg/mL, 100 µg/mL, 10 µg/mL, 1 µg/mL, dan larutan kontrol negatif sesuai metode yang dipakai oleh Surya (2018).

- Masing-masing ekstrak etanol 96% tangkai buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) ditimbang sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan dengan air laut sebanyak 50 mL untuk memperoleh konsentrasi 1000 µg/mL.
- Dari larutan dengan konsentrasi 1000 µg/mL diambil 5mL dan dilarutkan dengan air laut hingga 50 mL untuk mendapatkan konsentrasi 100 µg/mL.
- Dari larutan dengan konsentrasi 100 µg/mL diambil 5mL dan dilarutkan

dengan air laut hingga 50 mL untuk mendapatkan konsentrasi 10 µg/mL.

- Dari larutan dengan konsentrasi 10 µg/mL diambil 5mL dan dilarutkan dengan air laut hingga 50 mL untuk mendapatkan konsentrasi 1 µg/mL.
- Untuk mendapatkan larutan control negatif dibuat dengan mengambil 10 mL air laut.

PELAKSANAAN UJI TOKSISITAS

Pada setiap konsentrasi dari ekstrak etanol 96% tangkai Pinang Yaki dilakukan Uji Toksisitas dengan 3 replikasi menggunakan 10 ekor larva pada setiap kelompok uji. Sebanyak 3 replikasi digunakan untuk konsentrasi 100 µg/mL, 3 replikasi untuk konsentrasi 10 µg/mL, 3 replikasi untuk konsentrasi 1 µg/mL, dan 3 replikasi untuk sebagai kontrol negatif. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *A. salina*. Kriteria standar untuk menilai kematian larva *A. salina* yaitu bila larva *A. salina* tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi (Krishnaraju *et al.*, 2005).

ANALISIS DATA

Data hasil penelitian akan diolah dalam bentuk tabel dan grafik. Data akan dianalisis dengan analisis regresi linier menggunakan aplikasi perhitungan Microsoft Excel 2013 untuk memastikan nilai IC_{50} dan LC_{50} .

HASIL DAN PEMBAHASAN PENYIAPAN SIMPLISIA

Bagian tanaman yang digunakan yakni tangkai buah dari Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) yang diambil di Desa Tanggari Kec. Airmadidi, Sulawesi Utara. Sampel dicuci dengan air dan dikeringkan

kemudian diserbuk menggunakan alat blender dan diayak dengan ayakan. Proses pencucian sampel yang dilakukan bertujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya yang menempel pada sampel. Proses pengeringan sampel bertujuan untuk menghilangkan kadar air dalam sampel karena selain dapat mengganggu proses penarikan zat aktif, kadar air yang tinggi juga dapat membuat sampel mudah rusak oleh adanya pertumbuhan jamur. Proses penyerbukkan sampel bertujuan untuk memperbesar luas permukaan kontak dengan pelarut sehingga mengoptimalkan proses ekstraksi. Proses pengayakan bertujuan untuk menyeragamkan ukuran partikel, dimana keseragaman ukuran partikel ini dapat mempengaruhi keseragaman tahapan ekstraksi (Saifuddin *et al*, 2011).

EKSTRAKSI

Proses ekstraksi serbuk tangkai buah Pinang Yaki diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan sistem remaserasi atau maserasi berulang. Serbuk tangkai buah yang digunakan sebesar 200 gram direndam menggunakan etanol 96% kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan digojok menggunakan alat orbital shaker dengan pengadukan selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm. Pemilihan metode maserasi dikarenakan maserasi adalah metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan

tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut (Pamolango, 2016). Tahap remaserasi bertujuan untuk mendapatkan hasil ekstrak yang banyak dimana seluruh zat aktif akan tersari sempurna. Penggantian pelarut dengan yang baru setiap kali proses remaserasi akan menghindari terjadinya kejenuhan dalam proses penyarian (Edy, 2016).

IDENTIFIKASI FITOKIMIA

Identifikasi fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa sebagai suatu tumbuhan sebagai informasi awal untuk meramalkan aktivitas biologi suatu tanaman. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi fitokimia untuk menguji ada tidaknya golongan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dan berpotensi toksik, yaitu golongan flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Hasil penujian fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Identifikasi fitokimia.

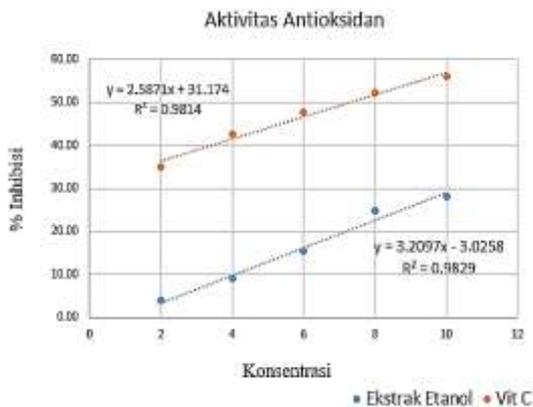
Senyawa Metabolit	Perubahan Positif	Perubahan yang terjadi
Flavonoid	Warna merah, kuning, atau jingga	+
Saponin	Busa stabil setinggi 1-10 cm	+
Triterpen	Cincin kecoklatan atau violet	+
Tanin	Warna hitam kebiruan atau hijau	-

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DENGAN METODE DPPH**

Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol tangkai buah Pinang Yaki dilakukan dengan menggunakan metode DPPH dengan panjang gelombang 517nm. Menurut Molyneux (2004), penggunaan metode DPPH merupakan cara pengujian yang cepat, mudah, dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam. Hasil pengujian DPPH dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan Aktivitas Antioksidan

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak Etanol Tangkai Buah Pinang Yaki	16.52
Vitamin C p.a	7.28



Gambar 1. Grafik Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengujian DPPH persen inhibisi pada ekstrak etanol tangkai buah Pinang Yaki mengalami peningkatan pada konsentrasi tertinggi yaitu 10 µg/mL yakni 28,13%. Peningkatan persen inhibisi ini pada ekstrak menandakan bahwa semakin besar

konsentrasi ekstrak maka semakin besar persen inhibisi. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Hanani *et al.*, (2005) yang menyatakan bahwa presentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi.

Berdasarkan perubahan warna yang terjadi dapat diketahui bahwa ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, hal ini ditunjukkan dengan warna yang berubah pada larutan dari ungu menjadi kuning pucat. Adanya perubahan yang terjadi disebabkan ketika larutan DPPH dicampur dengan suatu senyawa yang dapat mendonasikan atom hidrogen, maka DPPH berubah menjadi bentuk tereduksi (*1,1-difenil-2-pikrihidrazin*) dengan kehilangan warna violet menjadi warna kuning. Perubahan warna kuning ini menghasilkan senyawa bukan radikal (*1,1-difenil-2-pikrihidrazin*) dan radikal (A.) (Suryanto, 2012).

Kemampuan aktivitas penangkal radikal bebas ekstrak tangkai buah Pinang Yaki ini dibuktikan dengan nilai IC₅₀ yang sangat kuat sebesar 16.52 µg/mL, Nilai ini didapat dengan menghitung persamaan linear dari Gambar 1. Flavonoid merupakan senyawa penyebab adanya antioksidan. Senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. Senyawa flavonoid akan menyumbangkan satu atom hidrogen untuk menstabilkan radikal peroksi lemak (Dewi, 2014).

Pembandingan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu vitamin C p.a dengan konsentrasi yaitu 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6

$\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} dari Vitamin C didapat sebesar 7.28 $\mu\text{g/mL}$, nilai ini menunjukkan bahwa kemampuan penangkal radikal bebas dari Vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol tangkai buah Pinang Yaki. Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena vitamin C memiliki 2 gugus hidroksil yang mengakibatkan lebih mudah dalam pendonoran hidrogen (Blois, 2005).

Menurut Molyneux (2004), suatu antioksidan dikatakan sebagai antioksidan dengan aktivitas sangat kuat ketika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$ ($\text{IC}_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$), kuat ($50 \mu\text{g/mL} < \text{IC}_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$), sedang ($100 \mu\text{g/mL} < \text{IC}_{50} < 150 \mu\text{g/mL}$), lemah ($150 \mu\text{g/mL} < \text{IC}_{50} < 200 \mu\text{g/mL}$), dan sangat lemah ($\text{IC}_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$). Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C dan ekstrak etanol tangkai buah Pinang Yaki merupakan antioksidan dengan aktivitas sangat kuat.

Tabel 3. Presentase Jumlah Kematian Larva

Pengujian	Kontrol (-) 0 $\mu\text{g/mL}$	Jumlah Kematian Setiap Konsentrasi			
		1 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	1000 $\mu\text{g/mL}$
1	0	0	2	4	6
2	0	0	1	3	6
3	0	0	1	2	5
Total Kematian	0	0	4	9	17
Rata-rata	0	0	1.3	3	5.6
Persentase Kematian	0%	0%	13%	30%	56%

Menurut Apu (2013) Tingkat kematian dapat ditemukan secara langsung melalui perbandingan konsentrasi yang berkisar dari konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi. Dengan kata lain,

kematian larva udang disebabkan oleh peningkatan konsentrasi dalam sampel. Pada kontrol negatif tidak terjadi kematian, sehingga dapat dikatakan bahwa kematian larva bukan dikarenakan pengaruh air laut, melainkan karena ekstrak yang diberikan.

Hasil pengujian tersebut memberikan nilai

PENGUJIAN TOKSISITAS DENGAN METODE BSLT

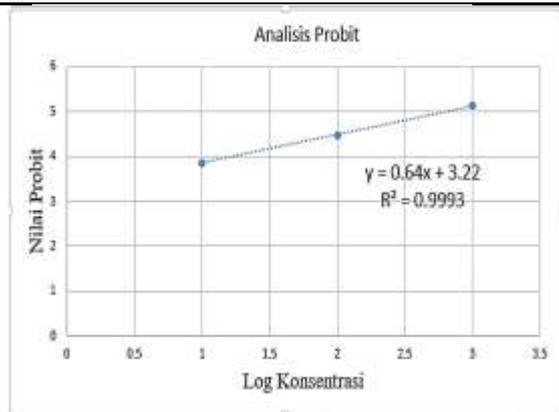
Pengujian aktivitas toksisitas yang dilakukan dengan metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina*. Kemampuan toksisitas ekstrak etanol dari tangkai buah Pinang Yaki dalam mematikan larva udang yang telah diberi perlakuan dengan konsentrasi 1, 10, 100 dan 1000 mg/L dapat dilihat dalam tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar juga tingkat kematian larva, dimana tingkat kematian tertinggi terdapat pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dan kematian terendah pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$.

LC_{50} sebesar 602 $\mu\text{g/mL}$ yang dihitung menggunakan analisis probit.

Tabel 4. Nilai Probit

Konse ntrasi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Log Konse ntrasi (x)	Kem atian (%)	Nilai Prob it (y)	LC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0		0		
1	0	0	0	
10	1	13	3.87	602
100	2	30	4.48	
1000	3	56	5.15	



Gambar 2. Grafik Analisis Probit

Suatu ekstrak dapat disebut toksik apabila mempunyai nilai LC₅₀ <1000 mg/L. LC₅₀ yaitu konsentrasi yang dapat mematikan 50% larva udang laut. Hasil analisis probit pada gambar 2 menggunakan persamaan regresi linear yang menunjukkan bahwa nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol tangkai buah piang yaki yakni 602 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol tangkai buah Pinang Yaki bersifat toksik.

Kematian larva *A. salina* disebabkan karena keberadaan senyawa metabolit sekunder yang bersifat toksik. Triterpenoid merupakan senyawa penyebab adanya sifat toksik. Berdasarkan identifikasi fitokimia yang dilakukan didapati ekstrak etanol positif mengandung triterpenoid. Ketika senyawa tersebut tertelan oleh larva, maka akan menyebabkan efek antifeedant yang membuat larva *A. salina* tidak bisa makan,

sehingga menyebabkan larva mati. Kemampuan suatu ekstrak menyebabkan kematian larva melalui mekanisme stomach poisoning dimana larva mengalami gangguan pada saluran cernanya serta reseptor permukaan mulut larva dihambat sehingga larva tidak bisa mendeteksi makanan sehingga mati kelaparan (Julfitriyani, 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol tangkai buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu Flavonoid, Saponin, dan Triterpenoid. Ekstrak etanol tangkai buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 16.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Dan ekstrak etanol tangkai buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) memiliki sifat toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 602 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

SARAN

Dari hasil penelitian ini perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai khasiat dari tangkai buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) karena memiliki aktifitas antioksidan yang sangat kuat dan bersifat toksik yang bisa berpotensi sebagai bahan obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi, A. C., N. M. Puspawati., I. M. D. Swantara., A. Asih., W. S. Rita. 2014. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum, syn*) Dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus

- Wistar. *Jurnal Cakra Kimia*. 2:(4) 7- 16
- Edy, H. J., Marchaban, S. Wahyuono, A. E. Nugroho. 2016. Formulasi dan Uji Sterilitas Hidrogel Herbal Ekstrak Etanol Daun *Tagetes erecta* L. *Pharmacon*. 5(2) 9-16.
- Hernani, R. M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Jakarta: Penebar Swadya.
- Hutapea, R. 2005. *Sehat dan Ceria Diusia Senja*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Julfitriyani, M. R. J. Runtuwene,. D. Wewengkang. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Foki Sabarati (*Solanum Torvum*). *Pharmacon*. 5(3) 94-101
- Krishnaraju A. V., Rao., Sundraraju, A. 2005. Assesment of Biooctivity of Indian Medical Plants tising *Brine Shrimp* (*Artemia salina*) Lethality Assay. *International Journal Applied Science and Engineering*.(2): 125-134.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarinn: Journal Science Technology*, 26:(2) 211-219.
- Pamolango, S. A., W. Bodhi., A. C. Wullur. 2016. Uji Fitokimia, Antioksidan, Dan Toksisitas Dari Ekstrak Daun Kentang (*Solanum tuberosum*) Dengan Metode 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Pharmacon*. 5:(3) 75-84.
- Saifudin, A., Rahayu, V., Teruna, H. Y. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Graha Ilmu: Jakarta.
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I., Makang, V. M. A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1(1).
- Simbala, H.E.I. 2006. Keanekaragaman Floristik dan Pemanfaatannya sebagai Tumbuhan Obat di Kawasan Konservasi II Taman Nasional Bogani Nani Wartabone (Kabupaten Bolaang Mongondow Sulawesi Utara). *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Surya, A. 2018. Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Jengkol (*Pithecellobium Jiringa*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* terhadap Larva Udang (*Artemia salina*), *Jurnal Rekayasa Sistem Industri*. 3:(2)149-153.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*, Surabaya; Putra Media Nusantara.